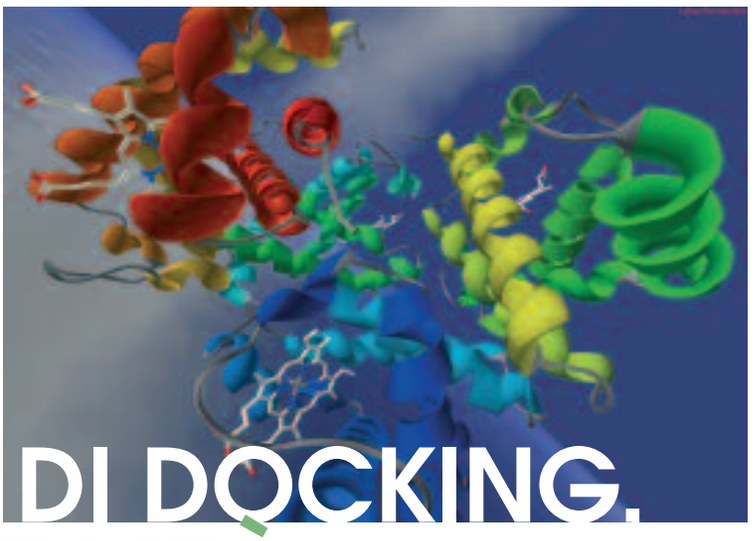
Marco Pestarino, Paola Fossa, Giulia Menozzi, Luisa Mosti
Dipartimento di Scienze Farmaceutiche
Università di Genova
marco.pestarino@unige.it



SINTESI, STUDI DI DOCKING, 3D-QSAR E ATTIVITÀ BIOLOGICA DI DERIVATI PIRAZOLO(3,4-b)PIRIDONICI

Lo studio di nuove molecole antagoniste al recettore adenosinico assume oggi grande importanza per la cura di patologie quali morbo di Alzheimer, morbo di Parkinson ed ipertensione, sempre più diffuse tra la popolazione.

L'adenosina è un importante neuromodulatore ubiquitario nel nostro organismo [1]; le sue funzioni fisiologiche sono espletate attraverso specifici recettori appartenenti alla superfamiglia genica delle G-Protein Coupled Receptors (GPCRs) e distinti in quattro sottotipi: A_1, A_{2A}, A_{2B} ed A_3. In particolare il sottotipo A_1, oggetto del presente lavoro, è espresso sia a livello centrale che in svariati organi quali polmoni, fegato, reni e cuore; per cui gli A_1-antagonisti trovano applicazione terapeutica, tra l'altro, come attivatori di processi cognitivi alleviando per esempio i sintomi del morbo di Alzheimer ed a livello periferico come antiipertensivi, diuretici risparmiatori di potassio e nella cura di deficit respiratori [2, 3].

Sintesi

In precedenti studi condotti dal nostro gruppo di ricerca è emerso che alcuni derivati a struttura pirazolo-piridinica erano dotati di buona attività antagonistica, selettiva nei confronti del recettore A_1 [4, 5]; come ampliamento di tali ricerche abbiamo sintetizzato una serie di analoghi a struttura pirazolo-piridonica [6]. Nell'ambito di tale sintesi, per l'ottenimento dei prodotti **1** e **2** (Fig. 1 e 2), abbiamo messo a punto una nuova metodica di riscaldamento a microonde che non prevede l'uso di solventi. In generale, l'impiego di questa metodica ha portato alla drastica riduzione dei tempi di reazione e ad un netto aumento delle rese rispetto al riscaldamento tradizionale in bagno ad olio.

Saggi biologici

Negli specifici test di binding effettuati per

* Marco Pestarino è stato premiato dal Gruppo Giovani della SCI per avere presentato, nell'ambito del V S.A.Y.C.S. - Sigma-Aldrich Young Chemists Symposium (Riccione, 10-12 ottobre 2005), il miglior poster per l'area tematica "Scienze della Vita, Salute e Biotecnologie".

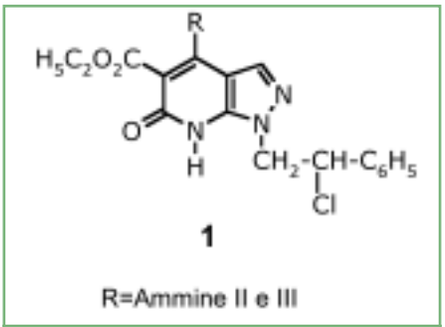


Fig. 1

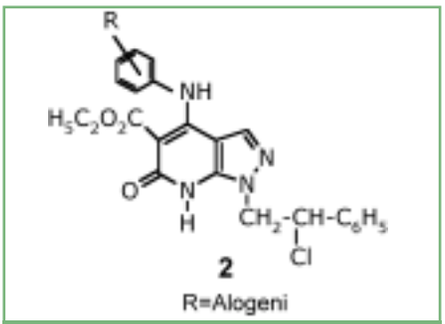


Fig. 2

saggiarne l'attività biologica *in vitro* verso i sottotipi A_1, A_{2A} ed A_3, i composti sintetizzati hanno mostrato in gran parte una buona affinità e selettività verso uno specifico subtipo recettoriale: in particolare il derivato anilinico ha mostrato un'elevata affinità e selettività verso il recettore A_3.

Studi di docking

Al fine di confermare i risultati biologici ottenuti, sono stati effettuati *in silico* studi di "docking" miranti all'identificazione della tipologia di interazione tra ligandi sintetizzati ed il modello 3D del recettore A_1 [7]; per validare questo approccio teorico, preventivamente sono stati effettuati studi di docking con un dataset di 12 antagonisti selettivi A_1. I risultati ottenuti, in pieno accordo con i dati sperimentali di mutagenesi sito-diretta [8], hanno evidenziato per tutti i ligandi in esame una fitta rete di interazioni sia idrofiliche (legami idrogeno) sia idrofobiche con specifici residui amminoacidici recettoriali. Nel caso dei composti da noi sintetizzati più attivi sul recettore A_1, questi risultati *in silico* sono apparsi ampiamente in accordo con i dati biologici.

Studi 3D-QSAR

Su queste basi, dopo aver ampliato il dataset portandolo a 70 composti ed averlo allineato, abbiamo effettuato studi 3D-QSAR per correlare in modo quantitativo la struttura all'attività. In questo modo è stato possibile predire l'attività di nuovi composti e fornire così utili linee guida per la sintesi di nuove molecole. I risultati ottenuti (Fig. 3 e 4) dimostrano che i due composti più attivi verso il sottotipo A_1 mostrano una interazione sterica favorevole con la controparte recettoriale mentre per tutti gli altri composti la somma di due interazioni sfavorevoli (sterica ed elettrostatica) giustificherebbe la minore affinità nei confronti del recettore.

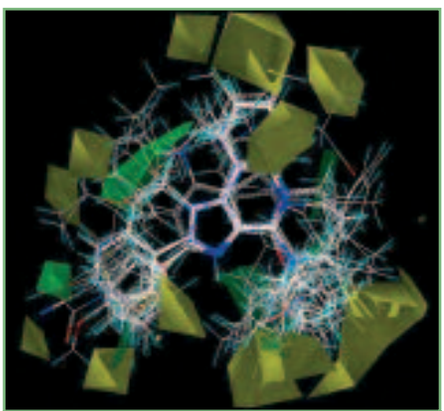


Fig. 3 - Mappa di interazione sterica

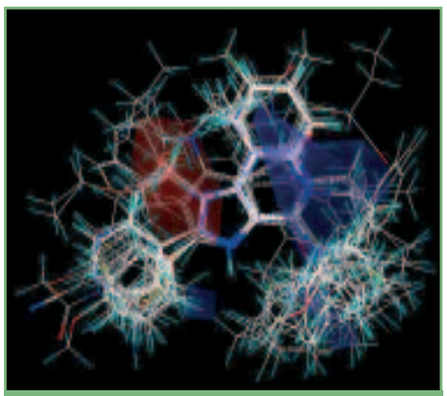


Fig. 4 - Mappa di interazione elettrostatica

Conclusioni

Sulla base dei dati ottenuti è in corso la sintesi di nuovi antagonisti A_1 a struttura pirazolo-piridonica.

Ringraziamenti: *Si ringraziano Raffaella Gambaro e Sara Baldassari del Dipartimento di Scienze Farmaceutiche dell'Università di Genova e Stefano Moro e Magdalena Bacilieri del Dipartimento di Scienze Farmaceutiche dell'Università di Padova.*

Bibliografia

[1] T.V. Dunwiddie, S. Masino, *Annu. Rev. Neurosci.,* 2001, **24,** 31.
[2] S. Hess, *Exp. Opin. Ther. Patents,* 2001, **11,** 1533.
[3] C.E. Muller, *Exp. Opin. Ther. Patents,* 1997, **7,** 419.
[4] F. Bondavalli *et al., J. Med. Chem.,* 2002, **45,** 4875.
[5] S. Schenone *et al., Eur. J. Med. Chem.,* 2004, **2,** 153.
[6] P. Fossa *et al., Org. Biomol. Chem.,* 2005, **12,** 2262.
[7] F. Giordanetto *et al., J. Comput-Aided Mol. Des.,* 2003, **1,** 39.
[8] B.B. Fredholm *et al., J. Pharmacol. Rev.,* 2001, **53,** 527.

ABSTRACT

Synthesis, Docking Studies, 3D-QSAR and Biological Activity of Pyrazole[3,4-b]Pyridonic Derivatives

Nowadays the study of new antagonist molecules of adenosic receptor is very important for the treatment of different pathologies, such as Alzheimer's and Parkinson's diseases and hypertension, greatly increasing in human been.